

P1114 柱子升级说明

	P1114 旧柱子	P1114 新柱子
柱子图片		
离心方式	水平或桶状离心机(不能用角度离心) 夹角太大(洗脱体积必须>3ml)。	水平或桶状离心机 角度离心机 8000-10000rpm
收集管	50ml 离心管	50ml 离心管 (盖子带垫片, 防止角度离心产生漏液) 5ml 尖底离心管(收集洗脱液)
洗脱	直接洗脱到 50ml 离心管中	可以直接洗脱至 50ml 离心管中 也可以直接洗脱到 5ml 尖底离心管更方便使用
洗脱损失	水平 5000rpm 洗脱, 损 400-500ul	水平 5000rpm 洗脱, 损 400~450ul。 角度 8000rpm 洗脱, 损 250~300ul。
抽滤	不变	不变
滤膜结构	不变	不变
最高结合力	不变(10mg)	不变(10mg)
新增	/	增加一步可选内毒素清洗液(EWB), 可进一步清除内毒素

离心条件	柱子类型	柱子滤膜残液变化 (通过重量变化获得)	65 度再烘干	洗脱量损失量
水平桶装离心机	白色大柱 EF Maxi	170~180ul	无, 柱子与实验前重量一样	450~500ul
5000rpm (4500 x g)	红色大柱 E6	170-180ul	无, 柱子与实验前重量一样	400~450ul
角度离心机	白色大柱 EF Maxi	500~800ul	无, 柱子与实验前重量一样	1.5~2.0ml
8000rpm (6800 x g)	红色大柱 E6	170-180ul	无, 柱子与实验前重量一样	250~300ul
柱子干燥说明	白色柱子: 5000rpm 水平离心 10 分钟, 柱子出现残留, 余 170-180ul 液体残留 (PW2, 乙醇) 白色柱子: 8000rpm 角度离心 10 分钟, 残留大量液体, 原因是因为柱子底部夹角太大, 角度离心时, 有 1.0-1.5ml 在夹角与膜中保留, 无法流出。 红色柱子: 5000rpm 水平离心或 8000rpm 角度离心 10 分钟, 柱子仍有残留, 烘干也建议保留。			
洗脱说明	水平离心 5000rpm: 白色旧柱子或红色大柱因离心力太低, 有 400-450ul 残留。 角度离心 8000rpm: 红色大柱只有 250-300ul 残留, 白色大柱因角度太大, 有 1.5-2.0ml 残留, 因此白色大柱不适合角度离心。 最佳推荐洗脱: 1.5ml 第一次(洗脱出 50~60%), 第二次再加 1.0ml (洗脱出 30~40%)。			

实验数据：

取 100ml 和 300ml 培养过夜的大肠杆菌，按说明书制备上清液并进行混匀以得到相同的上清液，然后过两种柱子，并用水平离心机[速度为 5000rpm，相当于 4500xg) 和角度离心机 (8000rpm，相当于 6500xg) 进行离心过柱操作，并记录柱子在空甩干燥的重量，以及 65 度烘干后的重量，以及洗脱后柱子增加的重量，以得到空甩后柱子中乙醇残留量，以及洗脱液损失量。

菌液用量	柱子类型	离心条件	实验过程中柱子重量变化	洗脱次数	洗脱体积	实得洗脱体积	浓度 Ug/ul	A260/280	A260/230	产量 Ug
10ml 菌液	白色大柱 EF Maxi	水平或桶装离心机：5000rpm	实验前：4.322mg 空甩后：4.505mg【183】 烘干后：4.319mg 洗脱后：4.769mg【447】	第一次	1000ul	500ul	895	2.02	2.20	447
				第二次	1000ul	1060ul	309	1.94	2.12	328
				第三次	1000ul	1000ul	86	1.89	2.00	86
				总和		2560ul	339	1.97	2.17	867
	红色大柱 E6	水平或桶装离心机：5000rpm	实验前：5.389mg 空甩后：5.524mg【135】 烘干后：5.390mg 洗脱后：5.792mg【403】	第一次	1000ul	585ul	1157	2.13	2.35	677
				第二次	1000ul	1040ul	393	2.06	2.32	409
				第三次	1000ul	1000ul	163	2.04	2.32	163
				总和		2625ul	522	2.11	2.37	1370
	红色大柱 E6	角度离心机 8000rpm	实验前：5.385mg 空甩后：5.517mg【132】 烘干后：5.389mg 洗脱后：5.624mg【239】	第一次	1000ul	775ul	1075	2.11	2.35	833
				第二次	1000ul	995ul	279	2.06	2.31	278
				第三次	1000ul	1000ul	66	1.95	1.82	66
				总和		2770ul	430	2.10	2.33	1191
	红色大柱 E6	角度离心机 8000rpm	实验前：6.120mg 空甩后：6.298mg【178】 烘干后：6.118mg 洗脱后：6.351mg【231】	第一次	1000ul	785ul	440	2.04	2.29	345
				第二次	1000ul	985ul	362	2.11	2.35	357
				第三次	1000ul	1035ul	366	2.14	2.29	379
				总和		2805ul	386	2.10	2.35	1083
300ml 菌液	白色大柱 EF Maxi	水平或桶装离心机：5000rpm	实验前：4.319 空甩后：4.479 [160mg] 烘干后：4.369 洗脱后：4.815【446mg】	第一次	1000ul	560ul	3300	2.13	2.35	1848
				第二次	1000ul	1020ul	1065	2.08	2.39	1087
				第三次	1000ul	1010ul	289	2.04	2.34	292
				总和		2590 ul	1248	2.09	2.36	3232
	红色大柱 E6	角度离心机 8000rpm	实验前：5.513 空甩后：5.625 [112mg] 烘干后：5.530 洗脱后：5.811[281mg]	第一次	1000ul	665 ul	3320	2.11	2.40	2208
				第二次	1000ul	1030ul	1068	2.07	2.37	1100
				第三次	1000ul	1020 ul	171	2.05	2.34	174
				总和		2715 ul	1205	2.10	2.41	3271